



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Grado

ESTUDIO DE LA PSEUDOTUBERCULOSIS OVINA EN LOS ANIMALES
REMITIDOS AL SERVICIO DE CLÍNICA DE RUMIANTES EN EL PERIODO
2014-2017

STUDY OF OVINE PSEUDOTUBERCULOSIS IN ANIMALS REFFERED TO
THE RUMINANT CLINICAL SERVICE IN THE PERIOD 2014-2017

Autora

CRISTINA HERNÁNDEZ NAVARRO

Directores

LUIS MIGUEL FERRER MAYAYO
MARTA BOROBIA FRÍAS

Facultad de Veterinaria

2017

ÍNDICE

1. Índice de figuras.....	3
2. Índice de tablas.....	3
3. Índice de gráficos.....	3
4. Resumen.....	4
Summary.....	5
5. Introducción y justificación.....	6
5.1 Concepto.....	6
5.2 Etiología.....	7
5.3 Transmisión.....	8
5.4 Patogenia.....	9
5.5 Lesiones.....	11
5.6 Diagnóstico.....	13
5.7 Tratamiento, control y prevención.....	15
6. Objetivos.....	17
7. Metodología.....	18
8. Resultados y discusión.....	20
8.1 Curso 2014-2015.....	21
8.2 Curso 2015-2016.....	22
8.3 Curso 2016-2017.....	23
9. Conclusiones.....	26
Conclusions.....	27
10. Valoración personal.....	28
11. Bibliografía.....	29

1. ÍNDICE DE FIGURAS

5. Introducción y justificación

<u>Figura 5.5.1.</u> Linfonodo mediastínico afectado. Aspecto de “capas de cebolla” a la sección del corte.....	11
<u>Figura 5.5.2.</u> Linfonodo preescapular afectado. Forma superficial de linfadenitis caseosa.....	12
<u>Figura 5.5.3.</u> Linfonodo mediastínico afectado. Forma visceral de linfadenitis caseosa.....	13
<u>Figura 5.5.4.</u> Forma visceral de linfadenitis caseosa en riñón.....	13
<u>Figura 5.6.1.</u> Toma de muestras de nódulo linfático submandibular <i>postmortem</i>	14
<u>Figura 5.6.2.</u> Toma de muestras de nódulo linfático submandibular <i>in vivo</i>	14

2. ÍNDICE DE TABLAS

8. Resultados y discusión

<u>Tabla 8.1.</u> Resultados desde el año 2014 hasta el 2017 obtenidos de 160 animales.....	20
<u>Tabla 8.1.1.</u> Resultados del curso 2014-2015 obtenidos sobre la muestra de 73 animales.....	22
<u>Tabla 8.2.1.</u> Resultados del curso 2015-2016 obtenidos sobre la muestra de 48 animales.....	22
<u>Tabla 8.3.1.</u> Resultados del curso 2016-2017 obtenidos sobre la muestra de 39 animales.....	23

3. ÍNDICE DE GRÁFICOS

8. Resultados y discusión

<u>Gráfico 8.1.</u> Población total del estudio.....	20
<u>Gráfico 8.2.</u> Distribución de las formas de presentación de la enfermedad en los diferentes cursos.....	23
<u>Gráfico 8.3.</u> Edad media del total de los animales en cada curso. a,b indican diferencia estadísticamente significativa. $p < 0,05$	24

4. RESUMEN

La pseudotuberculosis o linfadenitis caseosa (LC) es una enfermedad infecciosa, contagiosa, de curso crónico y no siempre detectable a simple vista. Está causada por *Corynebacterium pseudotuberculosis*. El cuadro clínico y lesional de la LC se corresponden con dos tipos de presentaciones: la superficial, afectando a linfonodos subcutáneos, y la visceral, afectando a órganos y linfonodos internos.

El presente trabajo muestra los resultados obtenidos en el Servicio Clínico de Rumiantes de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza desde el año 2014 hasta el año 2017, comprobados con necropsia y análisis microbiológico de las muestras tomadas.

Sobre un total de 160 animales se observó la presencia de LC en el 31,9% (51) de los casos. La forma visceral fue observada con mayor frecuencia, estando presente en el 70,6% (36) de las ocasiones, mientras que la presentación superficial se observó en el 21,6% (11) y ambas en el 7,8% (4) de las ocasiones.

En el 24,4% (39) solo presentaba lesión en un órgano y/o linfonodo, siendo el pulmón y el parénquima mamario las localizaciones más afectadas con un 5,6% (9) y un 5% (8) respectivamente.

Los resultados obtenidos obligan a considerar la existencia de una posible infravaloración del diagnóstico de la enfermedad a nivel de campo, lo que repercutiría a la hora de valorar las causas de desvieje de un rebaño, así como las pérdidas generadas por esta patología en el matadero, como consecuencia de los decomisos.

SUMMARY

Pseudotuberculosis or caseous lymphadenitis (CLA) is an infectious, contagious disease, with a chronic course that cannot be always detected on initial examination. It is caused by *Corynebacterium pseudotuberculosis*. The clinical and lesional signs of CLA correspond to two types of presentations: superficial, affecting to subcutaneous lymph nodes and the visceral form, affecting to organs and internal lymph nodes.

This paper shows the results obtained in the Ruminant Clinic Service of the Veterinary Faculty of Zaragoza from the year 2014 to the year 2017, checked with *post mortem* exam and microbiological analysis of the samples taken.

Out of a total of 160 animals the presence of CLA was observed in 31.9% (51) of the cases. The visceral form was detected more frequently, being present in 70.6% (36) of the occasions, while the superficial presentation was observed in 21.6% (11) and both of them together in 7.8% (4) of the cases.

In 24.4% (39) there was only lesion in an organ and/or a lymph node, being the lung and the mammary parenquima the most affected locations with 5,6% (9) and 5% (8), respectively.

The results obtained enforce to consider the existence of a possible underdiagnosis of the disease at the field level, which would have repercussions at the time of advise on culling causes of a herd, as well as the losses generated by this pathology in the slaughterhouse, as a consequence of the seizures.

5. INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN

La linfadenitis caseosa (LC) o pseudotuberculosis (PSTBC) es una enfermedad muy frecuente en el ganado ovino y que en su forma visceral pasa desapercibida. Debido a la cronicidad del cuadro y su baja mortalidad directa, es a menudo una enfermedad infravalorada. Dicha presentación es muy difícil de diagnosticar en la vida productiva de los animales. Estas dificultades hacen de la linfadenitis caseosa una patología complicada de eliminar por completo de la explotación, generando constantes pérdidas económicas a través del descenso de las producciones, desórdenes reproductivos, el gasto en tratamientos, decomisos en matadero y la eliminación temprana de los animales afectados del rebaño.

Son cada vez más los animales, tanto jóvenes como adultos, que se reciben en el Servicio Clínico de Rumiantes como causa de “desvieje” con abscesos internos y cuyo agente responsable es *Corynebacterium pseudotuberculosis*.

Por ello, se ha considerado necesario investigar y conocer más en profundidad la enfermedad, hacer un diagnóstico precoz y así poder acercarse más a la problemática real en las explotaciones.

5.1 Concepto

La linfadenitis caseosa o pseudotuberculosis es una patología infecto-contagiosa, de evolución crónica y con prevalencia mundial (Baird y Fontaine, 2007), cuyo agente responsable es *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Se caracteriza por una emaciación progresiva y la formación de abscesos caseosos en los linfonodos o en el parénquima de algunos órganos (Martin y Aitken, 2007).

Se distribuye mundialmente y las pérdidas económicas se atribuyen sobre todo al incremento del tiempo en el matadero para cortar y limpiar la canal, al decomiso de las canales, la pérdida de peso y producción de forma crónica, la reducción en la producción de lana, la muerte de ovejas gravemente afectadas y a la disminución del rendimiento reproductivo (Fontaine y Baird, 2008; Windsor y Bush, 2016).

Esta enfermedad afecta principalmente a pequeños rumiantes, siendo mayor el riesgo de padecerla en ovino que en caprino (Oreiby *et al.*, 2014; Al-Gaabary *et al.*, 2009). También ha sido descrita en otras especies de rumiantes como vacas, ciervos, llamas, dromedarios, camellos, etc.

así como en la especie equina, sin menospreciar la importancia de *Corynebacterium pseudotuberculosis* como agente zoonótico (Estevao *et al.*, 2006; Join-Lambert *et al.*, 2006; Peel *et al.*, 1997) y ha sido reconocida como una enfermedad ocupacional en países de producción ovina.

La enfermedad se instaura de modo insidioso y adopta un curso crónico. Cuando el contenido purulento fistuliza al exterior de los abscesos, evoluciona hacia la recuperación, no así en las formas viscerales graves que causan un deterioro en la condición orgánica del animal. Además, puede ocurrir que los nódulos necróticos internos bien encapsulados sean compatibles con un desarrollo vital aparentemente normal (León-Vizcaíno *et al.*, 2002).

5.2 Etiología

En ovino, el agente etiológico es *Corynebacterium pseudotuberculosis* biovar *ovis* que pertenece a la Familia *Actinomycetaceae*. Se trata de un cocobacilo, mesófilo, Gram positivo, no esporulado y anaerobio facultativo. Se caracteriza por producir abscesos, caseificación ganglionar y linfangitis. Habría que añadir también, cuadros purulentos no capsulados afectando articulaciones, órganos y cavidades (Pinochet, 1992).

Es un microorganismo muy resistente en el medio ambiente. En condiciones frías y húmedas, puede permanecer viable durante seis o más meses. En un experimento en el que se contaminó el suelo con pus, todavía contenía bacterias viables ocho meses después. Sin embargo, no se conoce si el microorganismo puede proliferar en el ambiente (Brown y Olander, 1987). Por lo tanto, el medio ambiente puede permanecer infectado durante un periodo significativo después de la contaminación por una oveja afectada.

El periodo de incubación es muy variable y prolongado. Se ha observado, tanto en cabras como en ovejas, un lapso de varios meses (4-6 meses) e incluso años, desde el momento de la infección (León-Vizcaíno *et al.*, 2002).

Experimentalmente, tras la inoculación, el periodo de incubación también puede variar de 25 a 140 días, como es el caso descrito por Alonso *et al.* (1992), en el que siete días antes del apareamiento, durante la etapa embrionaria de la gestación y durante la etapa fetal de la gestación, inocularon 2×10^6 células de *Corynebacterium pseudotuberculosis* subcutáneamente a quince hembras. Dicho periodo de incubación varía en función del momento de la inoculación en relación con el estado fisiológico.

C. pseudotuberculosis es una bacteria anaerobia facultativa y sus condiciones de crecimiento óptimo son, una temperatura de 37°C, con valores de pH entre 7.0 y 7.2 (Benham *et al.*, 1962),

sin embargo, según Batey (1986), el agente puede crecer bien en un rango de pH de 7.0 a 8.0. En medio sólido, las colonias bacterianas son de color pálido (Quinn *et al.*, 2013) y en medios líquidos tiene tendencia a formar aglomeraciones. El crecimiento bacteriano se ve favorecido por la adición de suero o sangre entera al medio nutritivo, que en el caso de adición de sangre entera se observa una banda de hemólisis alrededor de cada colonia a las 48-72 horas de incubación (Baird y Fontaine, 2007).

En aislamientos de *C. pseudotuberculosis*, en diferentes especies de mamíferos, se ha visto que comparte características bioquímicas idénticas, con la excepción de la reducción de nitrato. En la especie equina el nitrato se reduce a nitrito y es sensible a la estreptomycin, mientras que en el caso de la especie ovina y caprina no lo hace y es resistente a dicho antibiótico (Knight, 1969; Sutherland *et al.*, 1996). A partir de esta propiedad, se propusieron dos biotipos o subespecies distintas, que son *C. pseudotuberculosis* biovar *ovis* (biotipo 1) y *C. pseudotuberculosis* biovar *equi* (biotipo 2) (Songer *et al.*, 1988).

5.3 Transmisión

Se han sugerido diferentes rutas de transmisión, ya que son varias las investigaciones que se han centrado en conocer cómo *C. pseudotuberculosis* se trasmite de un animal a otro.

Es frecuente que los abscesos vayan aumentando su tamaño, hasta llegar a un punto que se produzca su fistulización. En el caso de la presentación superficial, el contenido caseoso será liberado directamente al medio, constituyendo una fuente activa de contagio. De esta forma las ovejas diseminan la enfermedad liberando gran cantidad de bacterias, entre 10^6 y 5×10^7 UFC/gramo de contenido purulento (Brown y Olander, 1987). Además, como ya se ha descrito anteriormente, la bacteria tiene capacidad para sobrevivir en el medio durante varias semanas incluso meses, lo cual amplía el potencial del período de infección más allá de la ruptura y descarga inicial. Así pues, una vez se ha diseminado y se establece de manera endémica en una explotación o región, resulta compleja su eliminación.

La vía de entrada habitual es a través de la piel o de las mucosas, mediante heridas abiertas o pequeñas abrasiones, ya sea por contacto directo con lesiones purulentas, o con fómites como el material de esquila, la ropa de trabajo, el encamado de paja, o a través de baños antisépticos contaminados (Brown y Olander, 1987; Robles y Olaechea, 2001). La cavidad oral juega un papel importante debido a la frecuencia con que se producen heridas en ella, por ejemplo, en la erupción de los dientes, la infección del virus del ectima contagioso o por el consumo de forrajes groseros.

Para algunos autores, los animales con lesión en el parénquima pulmonar o lesión en los linfonodos asociados, se cree que representan la principal fuente de infección (Pepin *et al.*, 1994a, Willianson, 2001), ya que en ovino, *Corynebacterium* ha sido aislado de tráquea en animales con abscesos pulmonares, lo que podría confirmar que las descargas purulentas que alcanzan las vías respiratorias procedentes de lesiones pulmonares podrían ser eliminadas mediante la tos en forma de aerosol, generando otra posible vía de contagio (Willianson, 2001; Windsor, 2011; Martin y Aitken, 2007). Estudios más recientes sugieren que las lesiones en pulmón y en linfonodos asociados, se desarrollan como parte de una infección sistémica iniciada en otro lugar del organismo. Es decir, no se desencadenan en ese lugar por una transmisión aerógena (Fontaine *et al.*, 2006).

Insectos como *Haemotobia irritans*, *Musca domestica*, *Stomoxys calcitrans* y *Culicoides* spp., se han citado como factor de riesgo en la transmisión ya que favorecen la dispersión de la bacteria, pero no ha sido confirmado experimentalmente (Aleman y Spier, 2001; Yeruham *et al.*, 1996).

El medio habitual de entrada de una nueva infección en un rebaño libre, es mediante la introducción de animales infectados que actúan como portadores (Martin y Aitken, 2007). En el mantenimiento y diseminación de la bacteria tiene gran importancia el manejo del ganado y las actividades ligadas a la explotación: las marcas en la oreja, castración o corte de rabo, la falta de higiene, la desinfección de las instalaciones y el esquileo, considerándose ésta última una de las actividades más importantes en la transmisión de la enfermedad y actuando como vía de entrada para el agente (Navarro *et al.*, 2015).

5.4 Patogenia

Corynebacterium pasa por diferentes etapas durante la progresión de la infección que se pueden dividir en tres fases: una fase inicial (días 1-4 post-infección), caracterizada por el reclutamiento de neutrófilos en el sitio de inoculación o entrada del agente y el drenaje de los nódulos linfáticos. Una segunda fase de amplificación (días 5-10 post-infección), caracterizada por el desarrollo de piogranulomas, y una última fase de estabilización, caracterizada por la maduración y la persistencia de los piogranulomas (Pepin, 1997).

Tras la entrada inicial, el organismo se dirige rápidamente a los nódulos linfáticos locales. Aquí, se desarrollan múltiples piogranulomas microscópicos, que van aumentando de tamaño y que coalescen finalmente para formar abscesos más grandes. A veces, en este momento la infección se puede diseminar a través de la sangre o el sistema linfático, provocando lesiones en otros órganos.

Para que el microorganismo se propague desde el punto inicial de entrada y pueda formar la clásica lesión de la linfadenitis caseosa, es de crucial importancia la supervivencia y replicación de *C. pseudotuberculosis* en macrófagos. En el interior de estos, y debido a la resistencia que posee frente a la fagocitosis, tiene capacidad para diseminarse por el sistema linfático y localizarse en los nódulos linfáticos regionales (Pepin *et al.*, 1994a). Una vez en dicha localización se produce inflamación de la zona, en la que predominan los neutrófilos, y posteriormente, son los macrófagos y los monocitos las células predominantes en el foco de infección (Pepin *et al.*, 1994b).

Los piogranulomas iniciales contienen bacterias y detritus celular, con una alta proporción de eosinófilos, proporcionando un núcleo de aspecto purulento y de tono ligeramente verdoso.

Posteriormente, la lesión se encapsula y necrosa, lo que conlleva una disminución de la reacción inflamatoria producida inicialmente. En las primeras fases de la enfermedad, el contenido purulento del absceso es semilíquido, sin embargo, con el tiempo, el contenido de la lesión evoluciona a un estado más sólido. Además, se forman pequeños nódulos de mineralización dentro del material purulento, que tienden a establecerse en capas concéntricas y que hacen que el color de la lesión sea más claro.

A partir del nódulo linfático afectado inicialmente, la enfermedad se puede diseminar a otros órganos y nódulos regionales. Se produce un desprendimiento de émbolos purulentos que pasan al sistema linfático y posteriormente al torrente sanguíneo. Sin embargo, una vez que se ha producido la encapsulación del absceso, la salida de estos émbolos se produce con mucha menos frecuencia (Radostis *et al.*, 2000). Así pues, se ha argumentado que, en la mayoría de los casos, la colonización de los órganos o nódulos linfáticos más allá del foco inicial de infección, debe ocurrir relativamente rápido y que sean las células fagocíticas el medio de transporte de la bacteria (Pepin *et al.*, 1994a).

En los animales afectados se instaura un estado de infección permanente, debido a las diferentes estrategias de evasión de la respuesta inmune del hospedador que ha desarrollado la bacteria (Fontaine y Baird, 2008).

Corynebacterium pseudotuberculosis dispone de varios factores de virulencia (Aleman y Spier, 2001), sin embargo la patogénesis se debe principalmente a dos factores, la toxina fosfolipasa D y un lípido de la pared celular, el ácido micólico o corynomicólico. Ambos contribuyen a la inflamación, edema y diseminación durante el desarrollo de abscesos (Brown y Olander, 1987; Songer *et al.*, 1997). El primero de ellos, produce la destrucción de la pared celular por hidrólisis de los lípidos, por lo que funciona como un factor que altera la

permeabilidad de la membrana endotelial de los vasos, promoviendo la diseminación del patógeno desde el punto inicial de infección hasta el resto de tejidos del organismo y favoreciendo el drenaje linfático. Por otro lado, produce necrosis de las células endoteliales, contribuyendo de nuevo a la entrada de la bacteria (Bastos *et al.*, 2012).

El segundo factor de virulencia, es un lípido de la pared celular que protege al microorganismo frente a los enzimas hidrolíticos presentes en los lisosomas, permitiendo así su supervivencia en el interior de los macrófagos y resistir a la fagocitosis (Willianson, 2001). Este factor es de suma importancia para la bacteria ya que, de esta forma, puede utilizar a los macrófagos para diseminarse por el organismo, viajando en el interior de estos. Además, la naturaleza tóxica del ácido micólico parece contribuir a la formación de abscesos.

A través de la formación de estos, el hospedador localiza la lesión y aísla el agente, pero a su vez, esto favorece la supervivencia de la bacteria que se sirve de este mecanismo para evitar enfrentarse a las defensas del animal y mantenerse activa. De este modo, se va generando la lesión característica en forma de capas, que no son más que las barreras defensivas que va creando el organismo y son superadas una y otra vez por la bacteria.

5.5 Lesiones

Como ya se ha mencionado anteriormente, la principal manifestación de la enfermedad es la presencia de abscesos, que a la sección, presentan un contenido caseoso en forma de capas, aspecto conocido como “capas de cebolla” (figura 5.5.1).



Figura 5.5.1. Linfonodo mediastínico afectado. Aspecto de “capas de cebolla” a la sección del corte.

Existen dos formas de presentación: superficial o cutánea (figura 5.5.2) y visceral o profunda (figura 5.5.3 y 5.5.4). La forma superficial afecta al tejido subcutáneo y a los linfonodos superficiales. Se puede reconocer fácilmente por inspección y a simple vista por el ganadero o veterinario. Esta presentación es la que, con frecuencia, se debe incluir en el diagnóstico diferencial de la enfermedad de Morel (enfermedad de los abscesos) o con cualquier

enfermedad que provoque la presencia de abscesos superficiales, como pueden ser infecciones causadas por *Streptococcus* spp., *Actinomyces* spp. o *Trueperella pyogenes* entre otras, también la presencia de cuerpos extraños, reacciones de sensibilidad a inyectables y menos común, la presencia de tumores (Aleman y Spier, 2001; Burrel, 1980; León-Vizcaíno *et al.*, 2002) o *Mycobacterium tuberculosis* que produce abscesos internos en órganos y linfonodos.

En este aspecto, el cultivo bacteriológico confirma la etiología de la enfermedad (Burrel, 1980; Brown y Olander, 1987).

En ovino adulto, los linfonodos prescapulares y precrurales son los más afectados en la forma superficial. Esta diferencia podría ser un reflejo de una de las vías de transmisión del microorganismo. Durante la esquila se producen cortes que son una puerta de entrada para el agente y por ello que se encuentren afectados dichos nódulos superficiales (Aleman y Spier, 2001; Chirino-Zarraga *et al.*, 2005).

Es preciso matizar que la presentación superficial de la enfermedad se encuentra con mayor frecuencia en animales jóvenes (Brugère-Picoux, 2004; Lloyd, 2000).

La forma visceral afecta principalmente a linfonodos profundos, pero también puede darse en vísceras. Su presencia, al ser interna, suele pasar desapercibida, lo que se traduce en fallos en el diagnóstico de la enfermedad. La escasa mortalidad y esta dificultad de diagnóstico hacen que esta presentación haya sido infravalorada.



Figura 5.5.2 Linfonodo prescapular afectado. Forma superficial de linfadenitis caseosa.

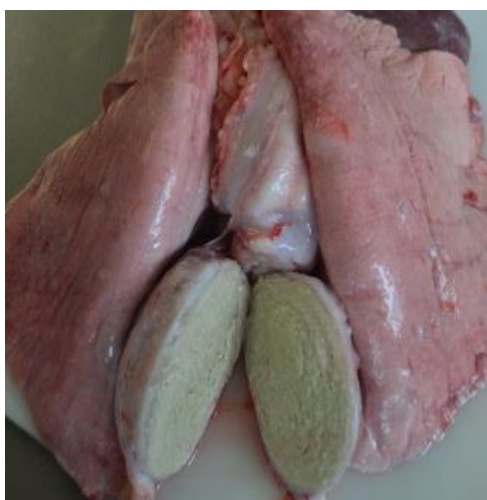


Figura 5.5.3. Linfonodo mediastínico afectado. Forma visceral de linfadenitis caseosa.



Figura 5.5.4. Forma visceral de linfadenitis caseosa en riñón.

5.6 Diagnóstico

Actualmente, el diagnóstico de LC en pequeños rumiantes se basa en los signos clínicos característicos y en la identificación microbiológica de *C. pseudotuberculosis* en el material recogido de los abscesos. Sin embargo, un control eficaz requiere un diagnóstico serológico ya que los animales infectados aunque no presenten síntomas aparentes, pueden ser una fuente de infección (Sting *et al.*, 2017).

El diagnóstico clínico de la presentación superficial es posible, pero la presencia de abscesos superficiales es sólo orientativa y debe ser confirmada por análisis microbiológico. Sin embargo, las lesiones viscerales no son detectables clínicamente, sino que se expresan según su número, localización y efecto en el órgano implicado. La pérdida progresiva de peso, los trastornos respiratorios y el timpanismo ruminal crónico recurrente son los signos más prominentes que pueden acompañar las lesiones viscerales de LC (Oreiby, 2015). La confirmación microbiológica de la forma visceral en animales vivos es, en la mayoría de veces, imposible de realizar, aunque si los riñones están afectados, *C. pseudotuberculosis* se puede aislar en muestras de orina (Ferrer *et al.*, 2009). También se puede aislar el agente en traquea, en caso de realizar un lavado nasotraqueal (Williamson, 2001; Windsor, 2011; Martin y Aitken, 2007). Además, los signos clínicos respiratorios asociados a LC no son fáciles de reconocer debido a que se trata solo de una disnea sin ningún sonido audible productivo, ya que el contenido de los abscesos es normalmente seco (Lacasta *et al.*, 2017). Las técnicas de diagnóstico por imagen son necesarias para intentar confirmar la forma visceral de la enfermedad y el aislamiento de la bacteria en muestras tomadas en necropsia es esencial para implantar un plan de control.

La punción del absceso para la toma de muestras del material purulento, infecta la piel de los animales y el medio ambiente, lo que representa un alto riesgo para la transmisión del patógeno dentro del rebaño. Por ello, que el desarrollo de pruebas inmunológicas basadas en la detección específica en el suero de anticuerpos contra *C. pseudotuberculosis* se haya promovido en todo el mundo (Baird y Fontaine, 2007).

Generalmente, la enfermedad es detectada *post mortem* en el animal, sin embargo, hay investigaciones que resaltan la importancia del diagnóstico serológico dado que detecta la enfermedad en estados subclínicos. Se han descrito una variedad de ensayos serológicos basados en técnicas de inmunofluorescencia indirecta (Simón *et al.*, 1987), fijación del complemento (Shigidi, 1979) y diferentes procedimientos de ELISA (Kaba *et al.*, 2001) entre otros.

Dos factores que hay que tener en cuenta para la elección de una prueba diagnóstica son la sensibilidad y la especificidad. Una prueba con una especificidad baja puede dar lugar a falsos positivos, mientras que una baja sensibilidad puede conducir a falsos negativos. Por lo general, las pruebas mencionadas en ovino tienen baja sensibilidad, y especialmente en animales con infección subclínica o con abscesos internos.



Figura 5.6.1. Toma de muestras de nódulo linfático submandibular post mortem.



Figura 5.6.2. Toma de muestras de nódulo linfático submandibular in vivo.

5.7 Tratamiento, control y prevención

In vitro, *C. pseudotuberculosis* es sensible a una amplia gama de antibióticos. En pruebas estándar de laboratorio, han sido varias las clases de antimicrobianos utilizados para detener su crecimiento y multiplicación (Muckle y Gyles, 1982; Judson y Songer, 1991). Sin embargo, *in vivo*, el tratamiento parenteral generalmente no es efectivo, debido a la dificultad de llegar al foco de

infección, por la encapsulación de la bacteria y la pared gruesa que se forma en la lesión típica de “capas de cebolla” (Willianson, 2001).

El tratamiento quirúrgico es una alternativa para animales de alto valor que presenten la forma superficial (Davis, 1990). Se debe sajar y drenar el contenido del absceso dentro de una bolsa o recipiente para evitar que el material purulento quede en el medio como fuente de contagio. Tras su limpieza se puede desinfectar y administrar antibiótico localmente. Sin embargo, no es totalmente efectiva ya que el animal, además, puede presentar también la forma visceral, y es un procedimiento que resulta costoso si la morbilidad es elevada.

Aunque la mayoría de desinfectantes de uso cotidiano, como el hipoclorito de calcio, la formalina o el cresol, son eficaces para destruir el microorganismo, la presencia de materia orgánica prolonga el tiempo de exposición requerido para producir efecto bactericida.

En un estudio con ovejas infectadas, el tratamiento satisfactorio fue con la combinación de antibióticos de oxitetraciclina durante intervalos de 3 días y rifamicina durante los 10 días de duración del tratamiento (Senturk y Temizel, 2006). Con dicho protocolo las lesiones externas remitieron.

El control de la LC debe basarse en un correcto diagnóstico de la enfermedad y esto sigue siendo un tema en investigación (Oreiby, 2015). La higiene y control ambiental y la vacunación, son las dos acciones en las que se basa el control de la enfermedad (Navarro *et al.*, 2015). A ello, pueden añadirse otras medidas como el control serológico o la mejora de las prácticas habituales de manejo como ya se han mencionado anteriormente.

C. pseudotuberculosis proviene de las secreciones caseosas de los animales enfermos y es capaz de sobrevivir en el medio y en la piel de los animales hasta que se produzca alguna discontinuidad o herida en las mucosas que le permita entrar en el nuevo hospedador. Hay situaciones que favorecen en gran medida el contagio entre los animales y que por tanto son factores de riesgo, como pueden ser el esquileo, raboteo, las marcas y colocación de crotales o castración, prácticas en las que los animales sufren heridas que facilitan la entrada del patógeno. A esto puede añadirse cualquier manejo que implique contacto estrecho entre los animales, como los baños antiparasitarios, en los que la bacteria puede sobrevivir hasta 24 horas (Cheuquepán *et al.*, 2008), transmitiéndose fácilmente desde los animales con abscesos abiertos.

Por tanto, es imprescindible la aplicación y el mantenimiento de medidas adecuadas de bioseguridad para evitar la diseminación de la enfermedad. La desinfección de la máquina de

esquilar, el aislamiento de animales enfermos o la aplicación de productos antisépticos en los abscesos abiertos o en las heridas, tienen gran importancia en la prevención. Además, hábitos como la palpación rutinaria de linfonodos superficiales en los animales, pueden facilitar la detección precoz de la enfermedad.

La vacunación podría ser otra herramienta útil para el control de la patología en el rebaño. No obstante, hay que valorar la prevalencia de la infección, así como la rentabilidad y el tamaño del rebaño afectado. A pesar de los diferentes tipos de vacunas frente a pseudotuberculosis que se citan en la literatura: vacunas basadas en bacterinas, toxoides, bacteria viva o ADN recombinante (Lacasta *et al.*, 2015), ninguna de ellas proporciona total protección a los animales inmunizados. Además, en estos momentos en España no existen vacunas comerciales específicamente elaboradas para combatir esta enfermedad.

Un aspecto determinante respecto a la eficacia del plan vacunal, sea cual sea el tipo de vacuna empleado, es la importancia de seguir el programa indicado por el fabricante (Paton *et al.*, 2003) y continuarlo durante los años necesarios hasta la eliminación de la sintomatología clínica.

Una solución, ante la falta de vacunas comerciales para este tipo de profilaxis, es la elaboración de autovacunas. La toma de muestras, de la pared interna del absceso, tras su apertura, es uno de los puntos críticos en la elaboración correcta de la vacuna. Una toma mal realizada y un diagnóstico erróneo es la causa de un fallo total en el programa.

6. OBJETIVOS

A partir de los datos recogidos de la exploración de los animales, de su examen *post mortem* y de la toma de muestras y análisis de las mismas, se ha planteado un objetivo principal con dos subobjetivos:

-Realizar un estudio de la incidencia de linfadenitis caseosa desde septiembre del año 2014 hasta finales de agosto del año 2017 de animales de la Comunidad de Aragón recibidos en el Servicio Clínico de Rumiantes de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza (SCRUM):

- Valorar la distribución de las lesiones en órganos y linfonodos de las presentaciones visceral y superficial.
- Determinar los animales con una localización uniorgánica o multiorgánica.

7. METODOLOGÍA

La elaboración de este Trabajo Fin de Grado se fundamenta, en primer lugar, en una revisión bibliográfica a partir del empleo de diferentes herramientas como: libros y revistas científicos y bases de datos que incluyen Google Académico, PubMed o Web Of Science. La segunda parte consiste en el análisis de datos recogidos a partir de la exploración de los animales y su examen *post mortem* junto con el análisis microbiológico de las muestras tomadas.

En el Servicio Clínico de Rumiantes de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza (SCRUM) se reciben animales procedentes en su mayoría de explotaciones de ovino de carne de carácter semi-extensivo. Dentro de los animales que ingresan en el servicio se encuentran, por un lado, los animales de desecho, cedidos por las ganaderías para su uso docente, y por otro, los casos clínicos remitidos por veterinarios de la zona para su diagnóstico. Esto supone trabajar con una muestra sesgada: por un lado, llegan animales que el ganadero considera que han terminado su vida productiva por distintos motivos (patologías crónicas o falta de producción), y por otro, los animales remitidos que llegan con un determinado problema patológico (generalmente grave) para su resolución. Por tanto, al tratarse de animales de desvieje o enfermos, no constituye una muestra representativa de la patología del rebaño, aunque sí supone una valiosa fuente de información acerca de las enfermedades más habituales en los rebaños locales y de cuáles son las causas patológicas que inducen a eliminar de la explotación animales que no tendrían por qué haber acabado su vida productiva todavía.

El presente estudio se ha realizado con un total de 160 animales, de los cuales, 143 proceden de dos explotaciones de Leciñena (explotaciones 1 y 2) y una de Cubel (explotación 3). Los animales se reciben en el servicio, se ingresan en la nave de cuarentena y se les realiza una rigurosa exploración clínica para determinar su estado general. A continuación, se toman las muestras requeridas en cada caso para realizar las pruebas diagnósticas pertinentes. De manera rutinaria también se realiza un análisis hematológico de todos los animales, además de otras pruebas complementarias que puedan ser necesarias. El diagnóstico se completa en la sala de necropsias de la Unidad de Anatomía Patológica e Histología y con el análisis de las muestras recogidas durante la misma mediante el hisopado de la cara interna de la pared de los abscesos (tubo con medio de transporte-Hisopo recolector de muestras Deltalab®).

Este proceso diagnóstico supone un estudio riguroso de cada individuo con el que se detectan patologías que se hallan muy presentes en el rebaño, pero que no suelen ser causa de

muerte. Estas patologías, entre ellas la linfadenitis caseosa (LC), pueden provocar pérdidas productivas importantes, quedando en muchas ocasiones enmascarado su diagnóstico por ser animales cuyo destino final sería el matadero. Los casos de LC reportados en este estudio fueron detectados en el diagnóstico anatomopatológico mediante la observación de lesiones compatibles y han sido confirmados a través de la toma de muestras de las lesiones presentes en los animales, de las que se ha realizado posteriormente el cultivo microbiológico. Todas las muestras tomadas fueron enviadas con su correspondiente informe al laboratorio EXOPOL y al Laboratorio Agroambiental del Gobierno de Aragón, donde se realizaron los cultivos en los medios ordinarios y específicos pertinentes para la identificación del germen implicado.

Dicho cultivo ha sido realizado en agar sangre Columbia (BioMérieux España S.A.) e incubado en condiciones de aerobiosis y en atmósfera enriquecida con CO₂ (estufa de cultivo con CO₂ al 10%), durante 48h a 37°C. Para la identificación de la bacteria se ha empleado el sistema comercial API® Coryne (BioMérieux España S.A.) (Système D'Identification des bacteries Coryneformes), siguiendo las instrucciones del fabricante.

Toda la información reunida de la ficha de exploración y necropsia, se intergra en una matriz estadística del programa SPSS STATISTICS 22.0 para poder evaluar la relación estadística entre las diferentes variables.

Los resultados se muestran en un primer paso con estadística de tipo descriptiva que nos permite observar si hay ausencia o presencia de la enfermedad, así como de las diferentes formas de presentación de linfadenitis caseosa y su localización en cada grupo de estudio.

Los valores correspondientes a variables numéricas o de escala, como por ejemplo la edad de los animales, son analizados dependiendo si cumplen o no el criterio de normalidad (calculado mediante las pruebas de Kolmogorov-Smirnov) y con pruebas no paramétricas ya que no siguen una distribución normal: Kruskal-Wallis, para cuando hay más de dos variables y cuando se obtienen diferencias significativas se realiza la (Prueba U de Mann-Whitney) para comparar una variable frente a otra y ver en entre qué grupos hay diferencia.

En todos los análisis se asume como significativo un resultado con $p < 0.05$.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados expuestos a continuación, han sido confirmados tras el cultivo y aislamiento de *C. pseudotuberculosis* en las muestras recogidas.

Tabla 8.1. Resultados desde el año 2014 hasta el 2017 obtenidos de 160 animales.

Animales afectados		
31,9% (51)		
Forma visceral	Forma superficial	Ambas
70,6% (36)	21,6% (11)	7,8% (4)

De los 160 animales examinados durante los tres cursos desde 2014 hasta 2017, el 31,9% (51) presentaron lesiones compatibles con LC. Este resultado es algo superior al obtenido por Al-Gaabary, Osman y Oreiby (2009) en los estudios que realizaron en matadero, donde obtuvieron una prevalencia del 22,1% en ovino. En otro estudio de matadero publicado por Fábregas, Simón y Canada (2005), la causa más importante de “no aptitud parcial” de la canal en ovino ≥ 12 meses resultó ser la linfadenitis caseosa, afectando a un 33% del total de canales con decomisos parciales.

De esos 51 animales (31,9% del total), 11 están afectados por la forma superficial (21,6%), mientras que la forma visceral está presente en el 70,6% (36) de los casos y en el 7,8% (4) se observan ambas formas de presentación (tabla 8.1 y gráfico 8.1).

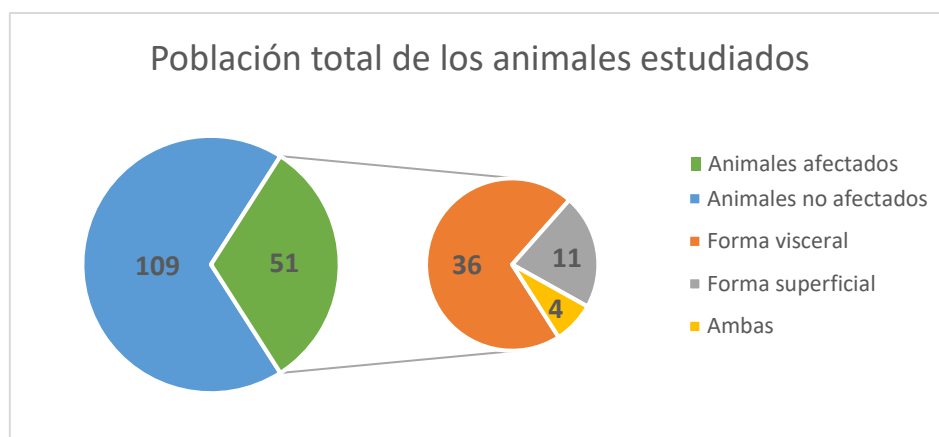


Gráfico 8.1 Población total del estudio.

Sobre los 40 animales que tienen la forma visceral o ambas presentaciones, los linfonodos mediastínicos se han visto afectados en el 60% (24) de las ocasiones y como lesión única en el

40% (16) de los casos. Este linfonodo es el que se ve afectado con mayor frecuencia, tal y como muestran los resultados obtenidos por Baird y Fontaine (2007).

De los animales afectados, el parénquima pulmonar se ha visto lesionado en el 17,6% (9) de las ocasiones y como lesión única en el 44,4% (4) de éstas. Lesiones en el parénquima mamario se han observado en el 15,7% (8) de los animales afectados y como lesión única en el 87,5% (7) de ellos. Finalmente, la localización mesentérica se ha observado en menos ocasiones, en el 5,9% (3) de los casos.

Además de los nódulos linfáticos, tanto superficiales como viscerales, también se pueden ver órganos afectados como el hígado, pulmón o parénquima mamario simultáneamente. Así pues, respecto a la afección de uno o varios órganos y/o nódulos linfáticos puede tener lugar una localización uniorgánica o multiorgánica respectivamente. La primera de ellas se ha observado en el 76,5% (39), frente al 23,5% (12) de la localización multiorgánica de los 51 animales que presentan la enfermedad.

La presentación superficial supone el 6,9% (11) de los 51 animales con linfadenitis caseosa. Dentro de estos once animales con presentación superficial, la afectación del linfonodo preescapular es la que se observa un mayor número de veces, con una incidencia del 72,7% (8). Además, este nódulo linfático, también está lesionado en dos de las cuatro ocasiones que se dan tanto la presentación superficial como la visceral. El siguiente punto con más incidencia, dentro de los animales con afección de los linfonodos superficiales, es el linfonodo mamario, con un 54,5% (6) de las ocasiones. Esta localización es otro de los puntos más habituales de lesión, como así lo corroboran autores como Burrell (1980) y Pepin, Paton y Hodgson (1994a).

Desglosando estos datos por cursos académicos se obtienen los siguientes resultados:

8.1 Curso 2014-2015

Los animales totales analizados en este periodo fueron 73, con una media de edad de 6,03 \pm 0,172 años. Se han observado lesiones compatibles con linfadenitis caseosa en el 34,2% (25). De estos, el 80% (20) presentaba la forma visceral, el 12% (3) la forma superficial y el 8% (2) ambas presentaciones (tabla 8.1.1 y gráfico 8.2).

Tabla 8.1.1. Resultados del curso 2014-2015 obtenidos sobre la muestra de 73 animales.

Animales afectados		
34,2% (25)		
Forma visceral	Forma superficial	Ambas
80% (20)	12% (3)	8% (2)

De los 25 animales que presentaban abscesos, el 76% (19) lo hacían con una localización uniorgánica, siendo el linfonodo mediastínico y el parénquima mamario las localizaciones más afectadas con un 36,8% (7) en cada localización.

El pulmón y el parénquima mamario siguen siendo los órganos más lesionados, tanto en la forma uniorgánica como multiorgánica, acompañado en la mayoría de veces también por el linfonodo mediastínico.

8.2 Curso 2015-2016

El total de animales fue 48, con una media de edad de $5,91 \pm 0,179$ años, algo inferior respecto al curso anterior. Se han observado lesiones compatibles con linfadenitis caseosa en el 31,3% (15). De los animales afectados, el 73,3% (11) presentaba la forma visceral mientras que la presentación superficial se observó con menor frecuencia, suponiendo el 20% (3). Tan solo en el 6,7% (1) se observaron ambas presentaciones (tabla 8.2.1 y gráfico 8.2).

Tabla 8.2.1. Resultados del curso 2015-2016 obtenidos sobre la muestra de 48 animales.

Animales afectados		
9,4% (15)		
Forma visceral	Forma superficial	Ambas
73,3% (11)	20% (3)	6,7% (1)

Respecto a la localización y distribución de la enfermedad, de los 15 animales afectados, el 80% (12) lo hacían con una localización uniorgánica, siendo el linfonodo mediastínico el más afectado con un 66,7% (8) de los casos. La distribución multiorgánica, por tanto, tiene lugar en los tres animales restantes, en los que el pulmón es el más afectado entre los diferentes órganos lesionados.

8.3 Curso 2016-2017

En el último periodo del estudio, han sido 39 animales con los que se ha trabajado, con una media de edad de $6,70 \pm 0,244$ años. El 28,2% (11) de los animales presenta lesiones compatibles con linfadenitis caseosa, de los cuales se observa la forma visceral y superficial por igual en un 45,5% (5) respectivamente. Tan solo el 9% (1) presenta ambas formas de presentación (tabla 8.3.1 y gráfico 8.2).

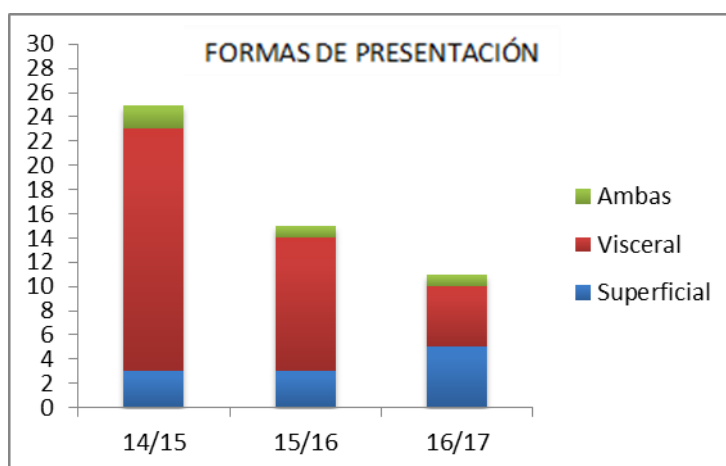


Gráfico 8.2. Número de animales con las diferentes formas de presentación en cada curso.

Entre los animales que presentan la enfermedad, el 72,7% (8) tiene afectado un solo órgano y/o linfonodo. Al igual que en los dos cursos anteriores, la localización uniorgánica sigue siendo superior respecto a la distribución multiorgánica, que se presenta en el 27,3% (3) de las ocasiones.

Tabla 8.3.1. Resultados del curso 2016-2017 obtenidos sobre la muestra de 39 animales.

Animales afectados		
6,9% (11)		
Forma visceral	Forma superficial	Ambas
45,5% (5)	45,5 (5)	9,1% (1)

Además, tras dividir la población en dos grupos de edad (menor o igual a seis años y mayor de seis años), se observa diferencia en el porcentaje de animales con presencia o ausencia de la enfermedad. En el primer grupo, que incluye los animales menores de seis años, engloba a 98 animales, en los que el 27,6% (27) presenta la enfermedad, frente al 72,4% (71) que tiene ausencia de ésta. El segundo grupo, aquellos que son mayores de seis años, son 62 animales, de

los cuales el 38,7% (24) presenta la enfermedad, frente al 61,3% (38) que no tiene lesiones compatibles.

A pesar de que la presentación superficial ha sido estudiada más en profundidad, la presentación visceral de la enfermedad es muy común, produciendo importantes pérdidas económicas como se muestra en varias encuestas que resaltan la importancia de la LC en mataderos. Un estudio sobre la prevalencia de la LC en 485 ovejas sacrificadas confirmó que la prevalencia de animales con abscesos de cualquier etiología fue del 36% en comparación con el 21% de LC que fue confirmado por Arsenault *et al.* (2003) o en otro estudio llevado a cabo en el matadero sobre 692 ovejas, en el que la prevalencia de LC sobre la base del examen macroscópico y análisis bacteriológico fue del 32,65% (Al-Gaabary *et al.*, 2010). En un tercer estudio realizado por el Servicio Clínico de Rumiantes sobre 132 animales sacrificados, el 32% de los animales tenía lesiones de LC, de ellos, el 70% presentaba la forma visceral de la enfermedad. Fue la única causa de desvieje en el 47% de estos animales, con una edad promedio de 5,2 años (Navarro *et al.*, 2015).

En este estudio la presencia o ausencia de la enfermedad viene determinada únicamente por la explotación de origen, por ninguna otra variable como puede ser la edad, el sexo, la raza o la forma de presentación entre otras.

Por un lado, hay diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre la presencia o ausencia de la enfermedad respecto al origen. La explotación 3 tiene un 42,6% de animales con presencia de linfadenitis caseosa, frente a un 21,9% en la explotación 1 y un 20,9% en los animales de la explotación 2.

También hay diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre la edad de los animales respecto del curso académico estudiado (gráfico 8.3).

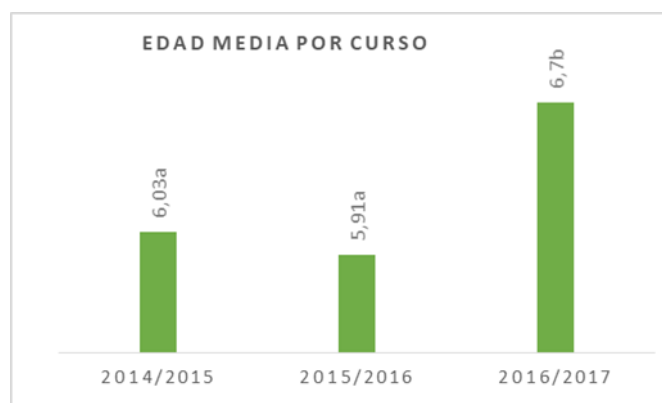


Grafico 8.3. Edad media del total de los animales en cada curso.

a, b indican diferencia estadísticamente significativa. $p < 0,05$.

Por otro lado, no hay diferencias estadísticamente significativas si se compara la edad de los animales con las variables de presencia o ausencia de la enfermedad, si tiene localización uniorgánica o multiorgánica o si se presenta de forma superficial o visceral.

Sin embargo, en un estudio de Chirino-Zaraga *et al.*, (2005) de linfadenitis caseosa en cabras, el número de aislamientos de *C. pseudotuberculosis* es independiente a variables como el sexo o la raza ($p>0.05$), pero es estadísticamente significativo respecto a la edad ($p<0,05$).

Hay que tener en cuenta que el presente estudio se ha realizado con animales que han ingresado en el Servicio Clínico de Rumiantes, y que se trata de una muestra sesgada. Por un lado se encuentran los animales de desecho, cedidos por las ganaderías para su uso docente, y por otro los casos clínicos remitidos por veterinarios de la zona para su diagnóstico. Por este motivo, puede haber diferencias en los resultados respecto a otros estudios. La población de este estudio se compone de animales que el ganadero considera que han terminado su vida productiva por distintos motivos (patologías crónicas o falta de producción) y animales que llegan con un determinado problema patológico, generalmente grave, para su resolución. Así pues, las diferencias en los resultados que puede haber se deben al estado de los animales recibidos, su edad o la mezcla de los diferentes orígenes de varias explotaciones que hacen que haya mayor proporción de linfadenitis caseosa ya sea como causa principal de eliminación de los animales o como causa secundaria a otras patologías.

9. CONCLUSIONES

- La linfadenitis caseosa (LC) está presente en un 31,9% (51) de los 160 animales estudiados recibidos en el Servicio Clínico de Rumiantes, procedentes principalmente de tres explotaciones de la Comunidad de Aragón.
- En los animales que tienen una edad superior a seis años, la enfermedad está en el 38,7% de los casos, mientras que en el grupo de animales que son menores o igual a seis años, la linfadenitis caseosa se observa en el 27,6% de los animales.
- La presentación superficial se ha observado en el 21,6% de los casos, la forma visceral en el 70,6% y ambas presentaciones simultáneamente en el 7,8%. Esta diferencia se debe a que la edad media de los animales del estudio es de $6,15 \pm 0,114$ años.
- La localización uniorgánica se ha visto con mayor frecuencia que la multiorgánica. El 24,4% de los animales presentan lesión en un solo linfonodo u órgano, siendo el linfonodo mediastínico el más afectado. El 10% de los animales presentan lesión única en dicha localización.
- La forma visceral precisa, generalmente, un examen *post mortem* del animal para ser detectada, por lo que nos encontramos ante una enfermedad infradiagnosticada e infravalorada en sus efectos.

CONCLUSIONS

- Caseous lymphadenitis (CLA) is present in 31.9% of the 160 studied animals received in the Ruminant Clinical Service, mainly from three farms in the autonomous community of Aragon.
- In animals over six years, the disease is present in 38.7% of the cases, while the group of animals that are younger or equal to six years, caseous lymphadenitis is observed in 27.6% of the animals.
- The superficial presentation has been observed in 21.6% of the cases, the visceral form in 70.6% and both presentations together in 7.8%. This difference is due to the fact that the average of the animal's age of the study is 6.15 ± 0.114 years.
- The uniorganic location has been seen more frequently than the multiorganic one. Twenty four four percent of the animals present lesions in only one lymph node or organ, being the mediastinal lymph node the most frequently affected. Ten percent of the animals present unique lesion in this location.
- The visceral form usually requires a *post mortem* exam of the animal to be detected, so we are faced with an underdiagnosed disease and undervalued in its effects.

10. VALORACIÓN PERSONAL

El desarrollo de este trabajo me ha permitido, a nivel formativo, asentar y profundizar en los conocimientos adquiridos durante el estudio de las asignaturas curriculares de años anteriores. A integrar información de diferentes campos, como son la exploración clínica del animal y sus alteraciones, la presentación clínica y *post mortem* de la enfermedad y la toma de muestras y la interpretación de sus resultados.

A nivel personal, el Trabajo Fin de Grado también me ha exigido mejorar mi propia capacidad de organización así como a perfeccionar mis habilidades sobre dónde y cómo buscar y encontrar información para hacer una revisión bibliográfica. También, destacar la relación personal que he tenido con gente que trabaja para lo mismo en diferentes campos, como: personal de laboratorio, técnicos en la sala de necropsias, compañeros y profesores, en especial del Departamento de Patología General y Médica.

A su vez, a mi parecer, la linfadenitis caseosa es una enfermedad muy estudiada pero que en España, se debería profundizar en el estudio de su control y prevención, para poder implantar una profilaxis vacunal como ya existe en otros países, con el objetivo de erradicar o disminuir su presencia en las explotaciones ganaderas, debido a la gran repercusión que tiene en las pérdidas económicas generadas por la disminución en la producción.

Por último, quería agradecer en especial a Luis Miguel Ferrer Mayayo y Marta Borobia Frías por su paciencia, atención y colaboración durante la realización de éste. También a José Calasanz Jiménez y José María González Sainz por su ayuda e implicación en todo momento que lo he necesitado y al laboratorio EXOPOL por el análisis de las muestras enviadas.

Mencionar también a mi madre y hermano, y sobre todo a mi padre.

11. BIBLIOGRAFÍA

- Aleman, M. y Spier, S.J. (2001). *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection. In Large Animal Internal Medicine. Págs 1078-1084, 3ª Edition. Edited by Smith P.B., St Louis, Estados Unidos.
- Alonso, J.L., Simon, M.C., Girones, O., Muzquiz, J.L., Ortega, C. y García, J. (1992). The effect of experimental infection with *Corynebacterium pseudotuberculosis* on reproduction in adult ewes. Research in Veterinary Science. Vol. 52, 267-72.
- Al-Gaabary, M.H; Osman, S.A y Oreiby, A.F. (2009). Caseous lymphadenitis in sheep and goats: Clinical, epidemiological and preventive studies. Small Ruminant Research. Vol. 87, 116 – 121.
- Al-Gaabary, M.H., Osman, S.A., Ahmed, M.S y Oreiby, A.F. (2010). Abattoir survey on caseous lymphadenitis in sheep and goats in Tanta, Egypt. Small Ruminant Research. Vol. 94, 117-124.
- Arsenault, J., Girard, C., Dubreuil, P., Daignault, D., Galarneau, J.R., Boisclair, J., Simard, C y Belanguer, D. (2003). Prevalence of and carcass condemnation from maedi-visna, paratuberculosis and caseous lymphadenitis in culled sheep from Quebec, Canada. Preventive Veterinary Medicine. Vol. 59, 67-81.
- Baird, G.J. y Fontaine, M.C. (2007). *Corynebacterium pseudotuberculosis* and its role in ovine caseous lymphadenitis. Journal of Comparative Pathology. Vol. 137, 179-210.
- Bastos, B.L.; Dias, R.W.; Dorella, F.A.; Ribeiro, D.; Seyffert, N.; Castro, T.; Miyhosi, A.; Oliveira, S.; Meyer, R. y Azevedo, V. (2012). *Corynebacterium pseudotuberculosis*: Immunological Responses in Animal Models and Zoonotic Potential. Journal of Clinical and Cellular Immunology. Vol. 4, 2.
- Batey, R.G. (1986) Factors affecting the yield of viable cells of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in a liquid medium. Veterinary Microbiology. Vol. 11, 145-152.
- Benham, C.L., Seaman, A. y Woodbine, M. (1962) *Corynebacterium pseudotuberculosis* and its role in diseases of animals. Vol. 32, 645-657.
- Brown, C.C. y Olander, H.J. (1987). Caseous lymphadenitis of goats and sheep: a review. Veterinary Bulletin. Vol. 57, 1-12.
- Brugère-Picoux, J. (2004). Maladie (Lymphadénite) Caséuse. Maladies des moutons, Págs. 62-65, 2ª Edición. Éditions France Agricole, Paris, Francia.
- Burrell, D.H. (1980). Caseous lymphadenitis in goats. Australian Veterinary Journal. Vol. 57, 105-110.
- Cheuquepán, F., Rios, M., Abalos, P. y Retamal, P. (2008). *Corynebacterium pseudotuberculosis*: una breve actualización. Avances en Ciencias Veterinarias. Vol. 23, 30-34.
- Chirino-Zarraga C., Scaramelli, A. y Rey Valeirón, C. (2005). Bacteriological characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in Venezuelan goat flocks. Small Ruminant Research. Vol. 65, 170-175.

- Davis, E.W. (1990). *Corynebacterium pseudotuberculosis* infections in animals. Large Animal Internal Medicine, Págs. 1120-1126. Edited by Smith, B.P., Toronto, Canadá.
- Estevao, S.G., Gallardo, A.A., Abalos, M.A., Jodor, N. y Jensen, O. (2006). Actualización sobre linfadenitis caseosa: el agente etiológico y la enfermedad. Veterinaria Argentina. Vol. 23, 258 – 278.
- Fábregas, X., Simón, J.A. y Canada, L. (2005). Resultados de la inspección veterinaria ante y *postmortem* en un matadero de bovino, ovino y caprino. Eurocarne. Vol. 33, 1-10.
- Ferrer, L.M., Lacasta, D., Chacon, G., Ramos, J.J., Villa, A., Gómez, P. y Latre, M.V. (2009). Clinical diagnosis of visceral caseous lymphadenitis in a Salz ewe. Small Ruminant Research. Vol. 87, 126-127.
- Fontaine, M.C., Baird, G.J., Connor, K.M., Rudge, K., Sales, J. y Donachie, W. (2006). Vaccination confers significant protection of sheep against infection with a virulent United Kingdom strain of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Vaccine. Vol. 24, 5986-5996.
- Fontaine, M.C. y Baird, G.J., (2008). Caseous lymphadenitis. Small Ruminant Research. Vol. 76, 42-48.
- Join-Lambert, O.F., Ouache, M., Canioni, D., Beretti, J.L., Blanche, S., Berche, P. y Kayal, S. (2006). *Corynebacterium pseudotuberculosis* necrotizing lymphadenitis in a twelve-year-old patient. Pediatric Infectious Disease Journal. Vol. 25, 848 – 851.
- Judson, R y Songer, J.G. (1991). *Corynebacterium pseudotuberculosis*: in vitro susceptibility to 39 antimicrobial agents. Veterinary Microbiology. Vol. 27, 145-150.
- Kaba J., Kutschke, L y Gerlach G.F. (2001). Development of an ELISA for the diagnosis of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infections in goats. Veterinary Microbiology. Vol. 78, 155-163.
- Knight, H.D. (1969). *Corynebacterial* infections in the horse: problems of prevention. Journal of the American Veterinary Medical Association. Vol. 155, 446-452.
- Lacasta, D., Ferrer, L.M., Ramos, J.J., González, J.M., Ortin, A. y Fthenais, G.C. (2015). Vaccination schedules in small ruminant farms. Veterinary Microbiology. Vol. 181, 34-46.
- Lacasta, D., Fernández, A., González, J.M., Navarro, T., Ferrer, L.M. y Ramos, J.J. (2017). Other respiratory diseases affecting adult sheep. Small Ruminant Research. (Aceptado para su publicación).
- León-Vizcaíno, L., Garrido, F., Gonzalez, M. y Cubero, M.J. (2002). Clínica de la pseudotuberculosis. Revista electrónica de Veterinaria. Enlace visitado el 27/04/2017 en: <http://www.exopol.com/circulares/205.html>.
- Lloyd, S. (2000). Linfadenitis caseosa en ovejas y cabras. Práctica ovina y caprina, 165-174.
- Martin, D.W y Aitken, I.D. (2007). Diseases of sheep. 4th Edition. Blackwell Publishing. Oxford, United Kingdom.
- Muckle, C.A y Gyles, C.L. (1982). Characterization of strains of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Canadian Journal of Comparative Medicine. Vol. 46, 206-208.

- Navarro, T., Ferrer, L.M., Ramos, J.J., Lacasta, D., Bueso, J.P., González, J.M y Catalán, E. (2015). Pseudotuberculosis: ¿Acorta la vida productiva de nuestras ovejas?. Págs. 1-8. Hoja divulgativa Zoetis España.
- Oreiby, A.F. (2015). Diagnosis of caseous lymphadenitis in sheep and goat. Small Ruminant Research. Vol. 123, 160-166.
- Oreiby, A.F., Hegazy, Y.M., Osman, S.A., Ghanem, Y.M. y Al-Gaabary, M.H. (2014). Caseous lymphadenitis in small ruminants in Egypt. Clinical, epidemiological and prophylactic aspects. Tierärztliche Praxis Grobtiere. Vol. 5, 271 - 277.
- Paton, M.W., Walker, S.B., Rose, I.R. y Watt, G.F. (2003). Prevalence of caseous lymphadenitis and usage of caseous lymphadenitis vaccines in sheep flocks. Australian Veterinary Journal. Vol. 81, 91-95.
- Peel, M.M., Palmer, A.M., Stacpoole, A.M. y Keer, T.G. (1997). Human lymphadenitis due *Corynebacterium pseudotuberculosis*: report of ten cases from Australia and review. Clinical Infectious Diseases. Vol. 24, 185-191.
- Pepin, M., Paton, M. y Hodgson, A.L. (1994a). Pathogenesis and epidemiology of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in sheep. Current Topics in Veterinary Research. Vol. 1, 63-82.
- Pepin, M., Pittet, J.C., Olivier, M. y Gohin, I. (1994b). Cellular composition of *Corynebacterium pseudotuberculosis* pyogranulomas in sheep. Journal of Leukocyte Biology. Vol. 56, 666-670.
- Pepin, M., Seow, H.F., Corner, L., Rothel, J.S y Hodgson, A.L. (1997). Cytokine gene expression in sheep following experimental infection with various strains of *Corynebacterium pseudotuberculosis* differing in virulence. Veterinary Research. Vol. 28, 149- 163.
- Pinochet, L. (1992). Linfadenitis caseosa: un problema aún sin solución. Monografías de Medicina Veterinaria. Vol. 14.
- Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B. y Carter, G.R. (2013). *Corynebacterium* species and *Rhodococcus equi*. En: Clinical Veterinary Microbiology, Págs. 137-143. Wolfe Publishing Company, London.
- Radostits, O.M., Gay, C.C., Blood, D.C. y Hincheliff, K.W. (2000). Caseous lymphadenitis in sheep and goats. En: Veterinary Medicine. Págs. 727-730, 9th Edition, Editorial London, Reino Unido.
- Robles, C. y Olaechea, F. (2001). Salud y enfermedades de las majadas. En ganadería ovina sustentable en la Patagonia Austral. Tecnología de Manejo Extensivo, Págs 225-243. Editado por P. Borrelli y G. Oliva. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Argentina.
- Senturk, S. y Temizel, M. (2006). Clinical efficacy of rifamycin combined with oxytetracycline in the treatment of caseous lymphadenitis in sheep. Veterinary Record. Vol. 159, 216-217.
- Shigidi, M.T. (1979). An indirect haemagglutination test for the sero-diagnosis of *Corynebacterium ovis* infection in sheep. Research in Veterinary Science. Vol. 24, 57-60.

- Simón, M.C., Negrodo, M.P., García, J., Gironés, O., Muzquiz, J.L. y Alonso, J.L. (1987) Técnica de inmunofluorescencia indirecta aplicada a la detección de anticuerpos frente a la célula de *Corynebacterium pseudotuberculosis* biovar ovis. *Medicina Veterinaria*. Vol.4, 7-8.
- Songer J.G. (1997). Bacterial phospholipases and their role in virulence. *Trends Microbial*. Vol. 5, 156-161.
- Songer, J.G., Beckenbach, K., Marshall, M.M., Olson, G.B. y Kelley, L. (1988). Biochemical and genetic characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *American Journal of Veterinary Research*. Vol. 49, 221-226.
- Sting, R., Schneider, B.L., Wagner, H., Maget, J., Polley, B., Burstel, D. y Axt, H. (2017). Clinical and serological investigations on caseous lymphadenitis in goat breeding herds in Baden-Wuerttemberg. *Veterinary Sciences*. Vol. 130, 136-143.
- Sutherland, S.S., Hart, R.A y Buller, N.B. (1996). Genetic differences between nitrate-negative and nitrate-positive *Corynebacterium pseudotuberculosis* strains using restriction fragment length polymorphisms. *Veterinary Microbiology*. Vol. 49, 1-9.
- Willianson, L.H. (2001). Caseous lymphadenitis in small ruminants. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. Vol. 17, 359-371.
- Windsor, P.A. (2011). Control of Caseous Lymphadenitis. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*. Vol. 27, 193-202.
- Windsor, P.A. y Bush, R.D. (2016). Caseous lymphadenitis: Present and near forgotten from persistent vaccination?. *Small Ruminant Research*. Vol. 142, 6-10.
- Yeruham, I., Braverman, N.Y., Shpigel, A., Chizov-Ginzburg, A. y Winler, M. (1996). Mastitis in dairy cattle caused by *Corynebacterium pseudotuberculosis* and feasibility of transmission by houseflies. Vol. 18, 87-89.